

生体膜の相転移(2)

著者	佐々木 直幸
雑誌名	日本歯科大学紀要. 一般教育系
巻	16
ページ	79-87
発行年	1987-03-20
URL	http://doi.org/10.14983/00000309

生体膜の相転移 II

Phase Transition in Lipid Bilayer Membranes II

歯 学 部 佐々木 直 幸

Naoyuki SASAKI : Physics Laboratory, The Nippon Dental University,
Fujimi, Chiyoda-ku, Tokyo 102, JAPAN

(1986年11月28日 受理)

1. 序 論

生体膜の多彩な機能は、多くの場合、生体膜中に組み込まれている蛋白質や、糖によるものと考えられる。しかしながら、脂質も膜中での蛋白質の活性に重要な影響を持っている。膜蛋白質の酵素反応や輸送性は、脂質の構成や炭化水素鎖の流動性に敏感であることが報告されている。¹⁶⁾ 膜蛋白質が最適な活性を持って働くためには、膜蛋白質はかなりきっちりした環境条件を要求するであろう。ある場合には、その周りに高い流動性を持った脂質を要求するであろうし、また、ある場合にはより堅い脂質を求めるであろう。実際、蛋白質分子の周りの脂質（境界脂質）は、蛋白から遠く離れた領域での脂質（バルク脂質）とはかなり性質が異なっていることが報告されている。すなわち、ゲル相では、多くの蛋白質の境界脂質はバルク脂質よりもより流動的、つまり、炭化水素鎖中により多くのゴーシュボンドを持っているが、液晶相ではバルク脂質よりも堅い、つまり、より多くのトランスボンドを持っている。

各種の脂質、コレステロール、蛋白質からなる複雑な生体膜のモデル系として、まず、脂質分子だけからなる脂質二重層膜の性質を理論的に調べることから始めよう。脂質膜のゲル相と液晶相の間の相転移については、そのミクロなメカニズムを明らかにする目的で、無数といえるほど多くの理論的モデルが提案されている。しかし、脂質分子のミクロな構

造をきちんと取り入れた膜モデルはまだない。

前報では、1種類の脂質分子からなる脂質二重相膜のゲル-液晶相転移とそれに伴う膜の性質の変化を、われわれのセルフコンシステント・チェーンモデル⁷⁾を用いて計算し、種々の観測結果をほとんど首尾一貫して説明してくれることを見てきた。ところで、実際の膜は幾種類かの脂質分子からなっている。例えば、酸素を輸送する赤血球膜の場合、その構成成分は蛋白質が 49wt%，脂質が 44wt%，その他 7wt% であり、その脂質成分はジパルミトイル・ホスファチジルコリン (DPPC)、ジミリストイル・ホスファチジルコリン (DMPC)、ジパルミトイル・ホスファチジルエタノールアミン (DPPE) などの複数のリン脂質から成っている。その多くが相転移を起こし、相転移はイオンの透過性や膜面に沿った移動のような膜の機能と密接に関連している。特に、相転移が体温付近に分布している、たとえば、DPPC では主転移が 41℃、前転移が 35℃、サブ転移が 18℃ にあり、DMPC では主転移が 23℃、前転移が 11℃ にあり、DPPE では 63℃ に相転移がある。このような相転移をもつ物質の混合系より脂質部分が成っていることが、膜の機能に重要な役割をしているものと思われる。

今報では、現実の生体膜に近付いた第2段階の膜モデルとして、何種類かの脂質分子からなる脂質二重層膜を考え、ゲル-液晶相転移の様相と膜系の相図を求め、実験と比較する。

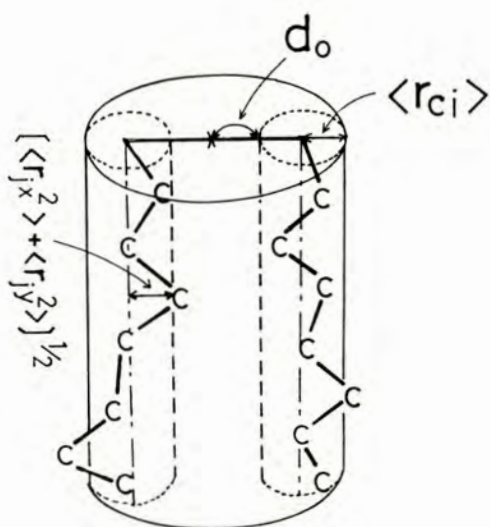


図1 脂質分子の円柱コア

2. モ デ ル

脂質分子は極性基と2本の炭化水素鎖から成っている。二重層膜中の脂質分子の状態は、分子の二次元的なパッキングの仕方と内部コンホメーションによって表される。脂質分子は図1のように、その軸が膜面に垂直な堅い円柱であるとして扱う。この取扱は2つの理由によって理に叶っている：膜中の脂質分子はゲル-液晶相転移温度付近で、その長軸の周りで急速な回転をしていることが観測されている；^{8,9)} また、多くの理論的研究から、脂質分子間の短距離反撥相互作用がパッキング構造に本質的であることも示されている。

脂質分子の内部コンホメーションは極性基鎖と2つのアルキル鎖のコンホメーションによって表される。しかし、極性基のコンホメーションはゲル-液晶相転移によって変化しない事が観測されているので、我々はアルキル鎖のコンホメーションだけを考えることにする。このコンホメーションは異性ボンド回転、つまり、トランスとゴーシュコンホメーションによって記述される。

q 種類の脂質分子からなる二重層膜の統計力学的状態を考える。

この問題は系の密度行列を得ることによって解くことができる。モデル系の密度行列を試行関数として選び、系の自由エネルギーを最小にするように決定する。自由エネルギーは

$$F = F_0 + \langle H - H_0 \rangle, \quad (1)$$

で与えられる。ここで H と H_0 は系とモデル系のハミルトニアン、 F_0 はモデル系の自由エネルギーである。平均 $\langle Q \rangle$ は $T_r[DQ]$ 、 D はモデル系の密度行列である。

$$D = \exp(-H_0/k_B T) / T_r[\exp(-H_0/k_B T)]. \quad (2)$$

モデル系は q 種の堅い円柱から成っており、その内部状態はアルキル鎖の異性ボンド回転によって表される。2次元の層での堅い円柱のパッキングは2次元の堅い円盤の scaled particle theory を用いて表すことができる。^{10,11)} 堅い円柱のパッキングの自由エネルギーへの寄与は

$$F_P = k_B T N \sum_{i=1}^q m_i \left\{ 1 + \ln \left[\frac{k_B T M_i}{2\pi h^2 \rho_i} \left(1 - \sum_{j=1}^q R_j^2 \rho_j \right) \frac{\pi R_i \sum R_j \rho_j}{1 - \sum \pi R_j^2 \rho_j} \right] \right\} \quad (3)$$

ここで、 N は脂質分子の総数、 m_i 、 M_i 、 R_i 、 ρ_i は i 番目の脂質分子のモル分率、質量、半径、数密度である。数密度は

$$\rho_i = m_i / \omega, \quad (4)$$

と書ける。 ω は膜表面での分子あたりの面積である。内部状態に対する自由エネルギーは、自由なポリマー鎖に対して展開された行列の方法¹²⁾ を用いて

$$F_c = -2k_B T N \sum_{i=1}^q m_i \ln(Z_i) \quad (5)$$

$$Z_i = J_i U_i^{n_i - n_{ii}} J \quad (6)$$

ここで、 U_i は i 番目の種類の分子のアルキル鎖に対する統計的重率を表す行列であり、

$$U_i = \begin{matrix} & \begin{matrix} (t) & (g^+) & (g^-) \end{matrix} \\ \begin{matrix} (t) \\ (g^+) \\ (g^-) \end{matrix} & \begin{bmatrix} 1 & \sigma_i & \sigma_i \\ 1 & \sigma_i & 0 \\ 1 & 0 & \sigma_i \end{bmatrix} \end{matrix} \quad (7)$$

$$\sigma_i = \exp(-\varepsilon_i/k_B T) \quad (8)$$

である。 ε_i はコンホメーションパラメーターで、トランスコンホメーションとゴーシュコンホメーション間のエネルギー差に対応している。 J_i と J は

$$J_i = [100], J^t = [111], \quad (9)$$

であり、 n_i はアルキル鎖の C-C ボンドの数、 n_{ii} はすべての温度で、トランスコンホメーションを保っている極性基近くのボンドの数である：隣合った極性基のパッキングによる立体的障害によって、極性基近くのボンドがゴーシュコンホメーションをとることは極めて希であろう。

実際の脂質膜では堅いコア間の反撥の他に、いろんな分子間相互作用が存在する：(1) アルキル鎖間の相互作用、(2) 極性基間の相互作用、(3) 極性基と水の間の相互作用、(4) 脂質分子間の疎水性相互作用、(5) 二重層の層間相互作用、などである。アルキル鎖間相互作用 V_c は木原ポテンシャル¹³⁾を用いて表す。これはノルマルパラフィンに適用され、観測結果を非常に正確に再現できたポテンシャルである。¹⁴⁾ 2本のアルキル鎖はその分子軸の周りで急激な回転を行っているので、図1に示した円柱を木原ポテンシャルに対するコアとして選ぶ。 i 種分子と j 種分子間の鎖間相互作用は

$$v_{ij}(r) = \sqrt{U_{ki}U_{kj}} \left\{ \left(\frac{p_k}{r-d_i-d_j} \right)^{12} - 2 \left(\frac{p_k}{r-d_i-d_j} \right)^6 \right\} \quad (10)$$

と書ける。ここで、 r は分子軸間の距離、 U_{ki} と p_k は2つの i 種分子間の相互作用に対するポテンシャルミニマムの深さと位置である。また、 d_i はポテンシャルコアの半径である。相互作用 (2)~(5) を含む残りの相互作用 V_r が、主に二重層を保たせている力であると考ええる。すると、この残りの相互作用 V_r は現象論的に横方向の圧力 P_i によって

$$V_r = N \sum_{i=1}^q \rho_i P_i \omega / \sum_{i=1}^q \rho_i \quad (11)$$

と表すことができる。ここに、 P_i は i 種脂質分子だけからなる二重層に対する横方向圧力である。

分子のパッキングについての V_c の平均化は、ハードディスクの混合系に対する 2 体分布関数 $g_{ij}(r)$ を用いて行う。ここでは隣相った分子間の相互作用 $v_{ij}(r)$ だけを考えることにする。したがって、分子間距離 r は (R_i+R_j) から $2(R_i+R_j)$ の範囲に限定される。内部コンホメーションについての V_c の平均は、ポテンシャルコアの半径 d_i をその熱平均 $\langle d_i \rangle$ で置き換えて

$$\langle d_i \rangle = d_0 + 2\langle r_{ci} \rangle \quad (12)$$

$$r_{ci} = r_{ct} + \eta \left\{ \left[\frac{1}{2n_i} \sum_{j=1}^q (\langle r_{jx}^2 \rangle + \langle r_{jy}^2 \rangle) \right]^{1/2} - r_{ct} \right\} \quad (13)$$

ここで、 $2d_0$ は図 1 に示したように、1つの分子内の 2つの鎖間の距離であり、 $\langle r_{ci} \rangle$ はアルキル鎖のコア半径、 r_{ct} はアルキル鎖がすべてトランスコンホメーションであるときのコア半径である。 $\langle r_{jx}^2 \rangle + \langle r_{jy}^2 \rangle$ は図 1 で示したように j 番目の炭素原子と鎖軸との距離の 2 乗の平均値である。 $\langle r_j^2 \rangle$ は自由鎖に対する方法¹⁵⁾を用いて求められる。(13) 式の還元因子 η は隣相った分子の 2本の炭化水素鎖が互いに相手方に進入していく効果を考慮するために導入した。

二重層膜中の脂質分子の状態はモデル系の密度行列 D を用いて表される。ここで、分子のパッキングの状態はハードディスクの半径 R_i と、分子あたりの面積 ω を用いて表すことができ、内部状態はアルキル鎖のコンホメーションパラメーター ϵ_i によって表せる。これらの状態パラメーター R_i , ω , ϵ_i は (1) 式の自由エネルギーを最小化することによって求める。ここで、 $F_0 = F_p + F_c$ であり

$$\begin{aligned} \langle H - H_0 \rangle = & 2N \sum_{i=1}^q m_i (\epsilon_0 - \epsilon_i) \sigma_i (\partial \ln Z_i / \partial \sigma_i) \\ & + \frac{1}{2} N \omega \sum_{i,j=1}^q 2\pi \int_{R_i+R_j}^{2(R_i+R_j)} v_{ij}(r) g_{ij}(r) r dr \end{aligned} \quad (14)$$

第 1 項は内部状態のエネルギー差からきている。 ϵ_0 は自由な炭化水素鎖の結合回転エネルギーである。 F の R_i に対する最小化は R_i を

$$R_i = \langle d_i \rangle + 4R_i, \quad (15)$$

とおき、 $4R_i$ で行った。

3. 脂質二重層膜の熱力学的性質

3.1 パラメーターの値

前節で記述したモデルを用いて脂質二重層膜の熱力学的性質を計算するためには、このモデルに含まれているパラメーターの可能な値を評価する必要がある。結合回転エネルギー ϵ_0 つまり、自由なアルキル鎖におけるゴーシュとトランスコンホメーションのエネルギー差は、 $\sim 500\text{cal/mol}$ と報告されている。¹⁶⁾ C-C 結合の結合距離と結合角は 1.3\AA と 112° とする。アルキル鎖における C-C 結合の数 n_i は 14, 16, 18 の場合を考える。これはそれぞれ DMPC, DPPC, DSPC の場合に相当している。すべての温度でトランスコンホメーションをとる結合の数 n_{ti} は $n_i=14, 16, 18$ に対してそれぞれ 6, 7, 8 の場合を考える。これは配向に対するオーダーパラメーター S_3 の値が極性基に近い 6 \sim 8 番目までは液晶相においてすらトランスコンホメーションに対応する値をとっているという観測^{17,18)} に基づいている。アルキル鎖間相互作用 V_c 中のパラメーター U_{ki} は、 $n_i=14, 16, 18$ に対してそれぞれ 5.05, 5.29, 5.40 kcal/mol とした。これは、 $n_i=2\sim 7$ に対する値¹⁴⁾ を $n_i=14\sim 18$ に外挿したものである。 V_c 中の p_k の値は 2.7\AA ¹⁴⁾ とする。脂質分子の質量 M_i としては DMPC, DPPC, DSPC の分子量を用いる。(13) 式における還元因子 η は 0.40 とする。これは、ゲル-液晶相転移における鎖間距離の変化が実験値を再現するようにとった値である。横方向の圧力 P_i は、観測される転移温度を再現するように決める。 $n_i=14, 16, 18$ に対して 112, 118, 128 dyn/cm である。

3.2 1種類の脂質分子からなる膜に対する結果

まず、1種類の脂質分子からなる二重層に対する計算結果を示そう。 $n_i=14, 16, 18$ を持つ二重層膜の ϵ_i , R_i , 数密度 $\rho_i (=1/\epsilon)$ の温度依存性を図2に示す。コンホメーションパラメーター ϵ_i は、ゲル-液晶相転移温度 T_m において不連続的に減少する。このことはアルキル鎖におけるゴーシュコンホメーションの数が T_m で不連続的に増加することを意味している。また、その結果として(12)式で与えられるポテンシャルコア半径 $\langle d_i \rangle$ も T_m で急激に増加する。(15)式で与えられる分子コア半径 R_i の温度依存性は $\langle d_i \rangle$ の寄与が支配的である。 ΔR_i の値は温度や鎖の長さにはほとんど依存せず、 $1.12\text{\AA}\sim 1.14\text{\AA}$ の範囲にある。 $T=T_m$ における転移エントロピー ΔS の計算値は、 $n_i=14, 16, 18$ に対してそれぞれ 13.0, 17.6, 23.0 cal/mol/deg であった。一方、DMPC, DPPC, DSPC に対する観測値¹⁹⁾ はそれぞれ 18.2, 27.7, 32.2 cal/mol/deg であり、計算値は観測値の約70%である。この不一致はこのモデルでは空間的な無秩序によるエント

ロビー変化を部分的にしか取り入れていないことから生じる。つまり、ここではゲル相においてすらハード・ディスクモデルを用いて脂質分子の空間分布を扱っているのに、観測に見られるように分子は最密六方格子を作っているが、ゲル相で期待されるような平衡格子点のまわりでの振動はない。アルキル鎖中のトランスコンホメーションを持つ C-C ボンドの割合 ρ_{ct} の温度変化を図3に示す。 ρ_{ct} の値は T_m で 0.95 から 0.80 に不連続的に変化する。ESR²⁰⁾ や NMR²¹⁾ の測定から液晶相において ρ_{ct} は 0.70~0.85 と評価されている。また、 T_m の近傍あるいはそれ以下でも 1, 2 個のゴーシュボンドがあることが分かっている。^{22,23)} このモデルでは約 1 個のゴーシュボンドがある。 T_m における ρ_{ct} の不連続的な変化の大きさは、 $n_i = 14, 16, 18$ に対して 0.10, 0.15, 0.17 である。

密度の測定から評価された値²²⁾ は、0.22, 0.23, 0.20 であった。以上の計算結果と観測値との比較から、この脂質二重層モデルは、二重層膜の熱的性質をうまく再現していることが分かる。

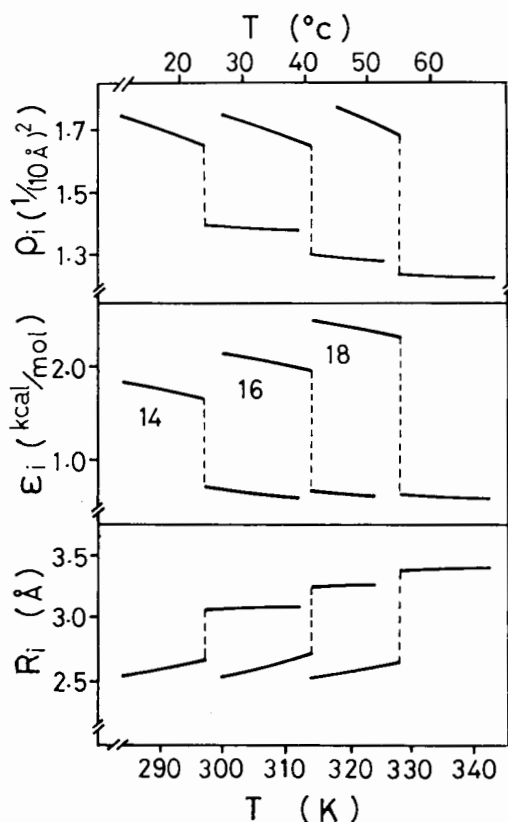


図 2 DMPC(14), DPPC(16), DSPC(18) に対応する脂質二重層の数密度 ρ_i , コンホメーションパラメーター ϵ_i , 分子コアの半径 R_i の温度依存性。

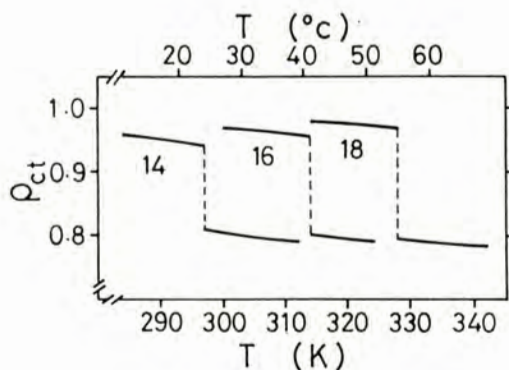


図3 $n_i=14, 16, 18$ の場合のアルキル鎖中のトランスコンホメーションを持った C-C ボンドの割合 ρ_{ct} の温度依存性。

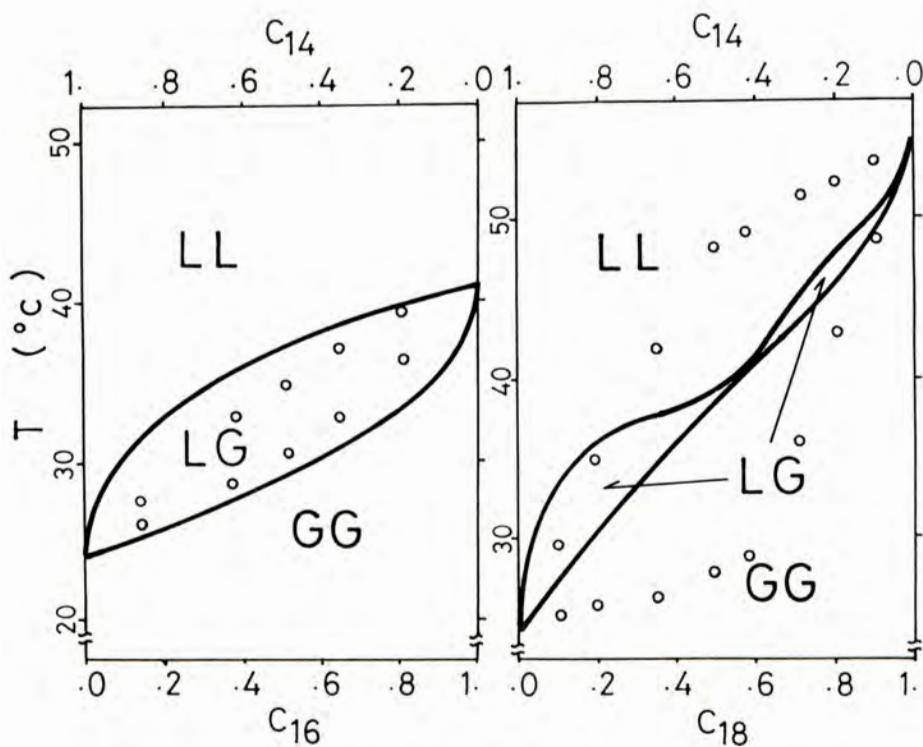


図4 14-16 と 14-18 二元混合脂質膜の温度-成分相図。実線は計算結果、 \circ は観測値である¹⁹⁾。 c_{16} は $n_i=16$ を持つ脂質分子のモル分率である。LG は短い鎖を持つ脂質分子が液晶状態にあり、長い鎖を持つ方の脂質分子はゲル状態にあることを意味する。

3.3 2種類の脂質分子からなる膜に対する結果

2種類の脂質分子からなる膜に対する相図の計算結果を図4に示す。ここでは、 $n_1=14$ と $n_2=16$ からなる脂質膜の場合と、 $n_1=14$ と $n_2=18$ からなる脂質膜の場合を考えた。14-16混合膜に対する計算結果は、DMPC と DPPC の2元混合膜に対する相図^{19,24)}と定量的に良く一致している。しかし、14-18混合膜に対する計算結果は、DMPC-DSPC 混合膜で観測される相図^{19,24)}とはかなり異なっている。

このモデルでは、脂質分子は LG 相でもホモニアスであり、2種類の脂質分子の空間的分離は考慮していない。しかし、2つの脂質成分の鎖の長さが大きく異なるような2元膜系においては、そのような相分離がおきる可能性は非常に大きいと思われる。

参 考 文 献

1. G.B. Warren, P.A. Toon, N.J.M. Birdsall, A.G. Lee and J.C. Metcalfe: *Biochemistry* **13**(1974) 5501.
2. G.B. Warren, M.D. Houslay, J.C. Metcalfe and N.J.M. Birdsall: *Nature* **255**(1975) 684.
3. P. Brulet and H.M. McConnell: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **68**(1976) 363.
4. T.R. Hesketh, G.A. Smith, M.D. Houslay, K.A. McGill, N.J.M. Birdsall, J.C. Metcalfe and G.B. Warren: *Biochemistry* **15**(1976) 4145.
5. A.G. Lee: *Biochim. Biophys. Acta*: **472**(1977) 237.
6. P.A. Baldwin and W.L. Hubbell: *Biophys. J.* **37**(1982) 85a.
7. T. Kambara and N. Sasaki: *Biophys. J.* **46**(1984) 371.
8. D. Marsh: *Biochemistry* **19**(1980)1632.
9. E. Boroske and L. Trahms: *Biophys. J.* **42**(1983) 275.
10. J.L. Lebowitz, E. Helfand and E. Praestgaard: *J. Chem. Phys.* **43**(1965) 774.
11. H.L. Scott and W.H. Cheng: *Biophys. J.* **28**(1979) 117.
12. P.J. Flory: *Statistical Mechanics of Chain Molecules* (Wiley Interscience, New York, 1969).
13. T. Kihara: *Rev. Mod. Phys.* **25**(1953) 831.
14. J.F. Connolly and G.A. Kandalic: *Phys. Fluids* **3**(1960) 463.
15. P.J. Flory and R.L. Jernigen: *J. Chem. Phys.* **42**(1965) 3509.
16. A. Abe, R.J. Jernigen and P.J. Flory: *J. Am. Chem. Soc.* **88**(1966) 631.
17. J. Seeling and W. Niederberger: *Biochemistry* **13**(1974) 1585.
18. B. Mely, J. Charvoline and P. Keller: *Chem. Phys. Lipids* **15**(1975) 161.
19. S. Marbrey and J.M. Sturtevant: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **73**(1976) 3862.
20. W.L. Hubbell and H.M. McConnell: *J. Am. Chem. Soc.* **93**(1972) 314.
21. H. Schindler and J. Seeling: *Biochemistry* **14**(1975) 2283.
22. J.F. Nagle and D.A. Wilkinson: *Biophys. J.* **23**(1978) 159.
23. B.P. Gaber and W.L. Peticolas: *Biochim. Biophys. Acta* **465**(1977) 260.
24. E.J. Shimshick and H.M. McConnell: *Biochemistry* **12**(1973) 2351.